

BBG021-P01

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## Rhopalodia 科珪藻に見られる細胞内共生シアノバクテリアの起源と分子進化 Origin and molecular evolution of endosymbiotic cyanobacteria seen in rhopalodiacean diatoms

中山 卓郎<sup>1\*</sup>, 池上 裕子<sup>2</sup>, 中山 剛<sup>2</sup>, 井上 勲<sup>2</sup>, 稲垣 祐司<sup>2</sup>, 笠井 文絵<sup>1</sup>

Takuro Nakayama<sup>1\*</sup>, Yuko Ikegami<sup>2</sup>, Takeshi Nakayama<sup>2</sup>, Isao Inouye<sup>2</sup>, Yuji Inagaki<sup>2</sup>, Fumie Kasai<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 国立環境研究所生物圏環境研究領域, <sup>2</sup> 筑波大学大学院生命環境科学研究科

<sup>1</sup>NIES, <sup>2</sup>University of Tsukuba

Rhopalodia 科に所属する *Rhopalodia* 属および *Epithemia* 属の珪藻は、細胞内に spheroid body と呼ばれる共生シアノバクテリアを有する。spheroid body の機能に関する決定的な証拠は未だ挙げられていないが、spheroid body を持つ *Rhopalodia gibba* には他の珪藻には見られない窒素固定能が認められることから、spheroid body が窒素固定の場として機能している可能性が指摘されている。興味深いことに、spheroid body は、宿主（珪藻）細胞外では生存できず、葉緑体やミトコンドリアと同様に宿主細胞に依存していると考えられている。また、Spheroid body のチラコイドは著しく退化していること、および蛍光顕微鏡下で自家蛍光を呈さないことなどから、spheroid body は既に光合成能を失っているとされる。これらのことを踏まえると spheroid body は、窒素固定に特化したオルガネラとして宿主細胞に統合されているか、もしくはその中途段階にあると考えられる。細胞内共生を通じたオルガネラ獲得は真核細胞の進化において極めて重要なイベントであるが、その進化機構を解明する上で Rhopalodia 科の珪藻が重要な手掛かりを持つ可能性は高い。しかし、これまで詳細な研究の対象となったのは Rhopalodia 科珪藻の中で *R. gibba* 一種のみであり、spheroid body の起源や進化について不明な点が多く残されている。

本研究では、まず spheroid body の起源について考察するため、複数種の Rhopalodia 科珪藻 (*Rhopalodia* 属 1 種、*Epithemia* 属 2 種) から宿主核および spheroid body の rDNA 配列を取得し、それぞれの分子系統解析を行った。宿主珪藻核の rDNA を用いた解析において、Rhopalodia 科珪藻は高いブートストラップ値によって支持される単系統群を形成した。また Spheroid body rDNA を用いた解析においても、全種の Spheroid body は単系統であることが強く示唆され、さらにその系統関係は宿主 rDNA による解析と一致していた。このことは、spheroid body が Rhopalodia 科珪藻の共通祖先によって一度だけ獲得され、宿主珪藻の種分化の過程を通じて受け継がれてきたものであることを示している。

次に、異なる種における spheroid body の分子進化を比較するために、*Epithemia turgida* の spheroid body ゲノムから窒素固定遺伝子クラスター配列を取得し、既に公開されている *R. gibba* の相同配列と比較を行った。先行研究において、*R. gibba* spheroid body の当該配列では偽遺伝子化や遺伝子の欠損などが起きていることが報告されていたが、比較の結果、*E. turgida* の spheroid body においてもほぼ同様の変異が起きていることが認められた。しかし同時に、偽遺伝子内における欠損部位などに差異も見受けられ、宿主珪藻の種分化に伴って spheroid body ゲノムにもそれぞれ独自の遺伝的変化が起きていることが示唆された。

キーワード: 細胞内共生, シアノバクテリア, 窒素固定, 珪藻

Keywords: Endosymbiosis, Cyanobacteria, Nitrogen fixation, Diatom

## 紅藻系二次共生藻類の進化・海洋進出イベントを理解する Understanding evolution and rise of algae with secondary red plastids in the sea

柏山 祐一郎<sup>1\*</sup>

Yuichiro Kashiyama<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 筑波大学数理物質科学研究科化学専攻

<sup>1</sup>Dept. Chemistry, University of Tsukuba

### (1) 背景: Why is the land green and the ocean red? (Falkowski et al., 2003); そして”いつ”, ”どうやって”

Falkowski et al. (2004) は、生命学者と地球化学者の双方に、海洋における藻類の進化について重要な問題提起をしたランドマーク的論文である。すなわち、古生代の海洋で繁栄した緑藻のグループが、顕生代の中葉に、現在の海洋に見られるような紅藻系二次共生藻類に取って代わられている地質学的事実を提示した。古生代の藻類の化石記録はきわめて限定的だが、古生代には緑藻類が主要な基礎生産者だったと考えられ、そこから陸上植物が進化した (The land is "green")。一方、中生代に入ると、三畳系上部から渦鞭毛藻、ジュラ系から円石藻と珪藻の化石記録が始まり、その多様化は現在につながる紅藻系二次共生藻類中心の海が、中生代以降に形成されていったことを示唆する。紅藻系二次共生藻類とは一次共生藻類である紅藻を細胞内に取り込み葉緑体化し、植物的に生存可能になったプロティストのグループである (The ocean is "red")。Falkowski et al. (2004) は、この”入れ替わり”の要因として、(a) 二次共生藻類の生理学的利点 (b) 生化学的利点を挙げ、特に後者については、紅藻および紅藻系葉緑体の要求する金属が現在の海水組成により適していることを示した。しかし、彼らの説明は”入れ替わり”以前に紅藻系が繁栄しなかったこと、ゲノム解析は紅藻系二次共生藻類の成立が後期原生代まで遡ることについて矛盾する。

### (2) 顕生代の藻類進化の足取りを理解するための新しい方法論の提案

本研究では、分子化石、特に化石ポルフィリンを用いた藻類進化の軌跡を理解するための新しいアプローチを提案する。化石ポルフィリンは各種クロロフィルが縮成作用を受けて堆積物中に保存される”光合成の化石”である。全ての緑藻はクロロフィル *b* を生産し、ほぼ全ての紅藻系二次共生藻類は各種クロロフィル *c* を生産し、それぞれの色素はそれぞれの分類群に特有のバイオマーカーと見なしうる。重要なことに、クロロフィル *b* とクロロフィル *c* はそれぞれ特有の化学構造を持つ化石ポルフィリンとして保存されることが、クロロフィルの化学的タフノミー研究より示唆されている (Kashiyama, 2010)。従って、堆積岩から抽出された化石ポルフィリンを調べることで、当時のクロロフィル *b* とクロロフィル *c* の相対的生産量を見積もることが可能である。筆者はさらに、熟成が進みポルフィリンが抽出されなくなった堆積岩からもクロロフィル *c* の証拠を示す分析法も開発している。近年の海洋微生物学の発展は、現在の海でもピコプランクトンとして緑藻類が量的に重要であること、化石に残らない紅藻系二次共生藻類が非常に多様であることを示しており、緑藻-紅藻系二次共生藻類の進化史は従来考えられてきたよりも複雑であると考えられる。化石ポルフィリンの研究からこれら藻類の進化の軌跡を記述することで、顕生代の藻類進化の理解に重要な貢献が可能であるといえよう。

Falkowski PG, Katz ME, Knoll AH, Quigg A, Raven JA, Schofield O & Taylor FJR (2004a) The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* **305**, 354-360.

Falkowski PG, Schofield O, Katz ME, Van De Schootbrugge B, & Knoll AH (2004b) Why is the land green and the ocean red? In: Therstein H & Young JR (eds) *Coccolithophores*, Elsevier, pp 429-453.

柏山祐一郎 (2010) 化石ポルフィリンのタフノミー: 分子レベル同位体指標としてのポテンシャルを引き出すために. *Res. Org. Geochem.* **26**, 39-71.

キーワード: クロロフィル *c*, 紅藻系二次共生藻類, 二次共生, 葉緑体, マクロ進化, 化石ポルフィリン  
Keywords: chlorophyll-c, red algae, secondary symbiosis, plastid, macroevolution, fossil porphyrin

BBG021-P03

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## 貧酸素環境に生息する底生有孔虫 *Virgulinea fragilis* の細胞内内生生物の共生機構： 特に盗葉緑体の獲得機構について Chloroplast acquisition in *Virgulinea fragilis* (foraminifera)

土屋 正史<sup>1\*</sup>, 豊福 高志<sup>1</sup>, 植松 勝之<sup>2</sup>, 北里 洋<sup>1</sup>

Masashi Tsuchiya<sup>1\*</sup>, Takashi Toyofuku<sup>1</sup>, Katsuyuki Uematsu<sup>2</sup>, Hiroshi Kitazato<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 独立行政法人海洋研究開発機構, <sup>2</sup> 株式会社マリン・ワーク・ジャパン

<sup>1</sup>JAMSTEC, <sup>2</sup>Marine Works Japan Ltd.

底生有孔虫 *Virgulinea fragilis* は、貧酸素環境に生息し、バクテリアとクレプトプラストの2種類の細胞内内生生物が見られる。それらは、貧酸素環境への適応に役割があると考えられている。本研究では、これらの内生生物の獲得様式に注目して、細胞内の内生生物の存在形態が、宿主有孔虫にとってどのような影響を与えるのかを明らかにすることにあり、盗葉緑体を中心にその獲得様式と機能を推測した。*V. fragilis* の細胞内にはプロテオバクテリアを細胞の表面付近に保持し、生息海域が異なっても同じバクテリアを持つ。分子系統樹のプロテオバクテリアの姉妹群には、有機物を利用するバクテリアが含まれ、細胞内のバクテリアも宿主が産生する有機物を効率よく利用している可能性が高い。これに対して、クレプトプラストはすべての海域で珪藻由来の葉緑体を保持するが、その種類は、海域や季節ごとに異なる。興味深いことに、珪藻葉緑体にあるはずの膜のうち、外側の膜が断片化されていることが明らかになった。他の生物でもクレプトプラストが知られているが、珪藻葉緑体をクレプトプラストとして、細胞内に保持するのは、これまでのところ、有孔虫のみである。有孔虫は、細胞内に珪藻を取り込む際に、殻を物理的にはがすことができ、細胞質を選択的に取り込むことができる。さらに、取り込まれた珪藻の細胞からは、細胞質のみ消化し、葉緑体を一定期間保持していることが観察された。このことは、宿主の細胞質と盗葉緑体の間で、物質のやり取りが可能にする戦略であると考えられる。

キーワード: 底生有孔虫, *Virgulinea fragilis*, 盗葉緑体, 共生細菌, 共生機構, 進化

Keywords: Benthic foraminifera, *Virgulinea fragilis*, Kleptoplast, symbiotic bacteria, symbiosis, evolution

BBG021-P04

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## 沿岸性小型底生有孔虫と細胞内共生藻類との関係 Relationship between coastal benthic foraminifera and its symbiotic algae

辻本 彰<sup>1\*</sup>, 森谷公香<sup>1</sup>, 大谷修司<sup>1</sup>, 野村律夫<sup>1</sup>  
Akira Tsujimoto<sup>1\*</sup>, Kimika Moritani<sup>1</sup>, Shuji Ohtani<sup>1</sup>, Ritsuo Nomura<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 島根大学 教育学部

<sup>1</sup> Faculty of Education, Shimane University

近年、沿岸海域において生元素 (P, N, Si) のバランスに変化が生じており、このバランス変化が植物プランクトンを基盤とする海洋食物連鎖の崩壊を引き起こす可能性が指摘されている。有孔虫の多くは藻類を摂食しており、殻の機能形態と摂食する藻類との関係が指摘されている。また、有孔虫は緑藻・紅藻・珪藻・渦鞭毛藻などの各種藻類を細胞内共生させていることも知られている。このような事実から、近年の栄養塩バランスの変化が沿岸性の有孔虫に影響を及ぼす可能性が指摘できる。大型有孔虫と共生藻類との関係に関する研究報告はあるものの、沿岸性小型底生有孔虫と藻類との関係に関する報告は少なく、その関係には不明な点が多い。このような観点のもと、現在沿岸性底生有孔虫とその共生藻類との関係に関する研究を行っている。本講演では、沿岸性小型底生有孔虫の細胞内から単離培養された藻類について報告する。

日本海に面する島根県松江市島根町の海岸や中海、大阪湾の沿岸域で試料となる底生有孔虫を採取した。島根町の海岸で採取した有孔虫は海藻や現場海水とともに実験室に持ち帰り、恒温水槽内で飼育した。島根町の海岸域では、海藻付着型の *Amphistegina* や *Glabratella*, *Quinqueloculina* などの有孔虫が多く存在した。現場海水を滅菌処理し、ダイゴIMK培地および  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  を添加して藻類培養のための培地を作成した。滅菌海水を用いて有孔虫殻を洗浄した後、実体顕微鏡下で有孔虫殻を破壊して原形質を分離した。分離した原形質を滅菌海水を用いて数回洗浄し、培地を分注した10mlの試験管を用いて20℃、12時間明期・12時間暗期に設定した培養器内で培養した。*Amphistegina* や *Glabratella*, *Quinqueloculina*, *Ammonia beccarii* などの有孔虫種に関して藻類の単離培養を試みたところ、各種の有孔虫試料から藻類の増殖が確認された。増殖した藻類のほとんどが珪藻類であり、珪藻の *Cylindrotheca closterium* は *Amphistegina* や *Quinqueloculina*, *A. beccarii* などの有孔虫種から産出したが、*A. beccarii* からの出現率が高かった。また、*Amphistegina* からは珪藻の *Nitzschia* sp. が、*Glabratella* からは珪藻の *Amphora* sp. などが特徴的に産した。摂食された藻類が未消化のまま残存していた可能性も考えられるものの、各種有孔虫と藻類の間にはある種の嗜好性が存在する可能性がある。

キーワード: 底生有孔虫, 共生藻類, 珪藻

Keywords: benthic foraminifera, symbiotic algae, diatom

BBG021-P05

会場:コンベンションホール

時間:5月26日10:30-13:00

## 岩礁地性底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* にみられる盗葉緑体の共生機構の解明 Kleptoplastidy in the benthic foraminifera *Planoglabratella opercularis* (d'Orbigny)

宮脇 省次<sup>1\*</sup>, 植松 勝之<sup>3</sup>, 土屋 正史<sup>2</sup>, 多米 晃裕<sup>3</sup>, 三宅 裕志<sup>1</sup>

Seiji Miyawaki<sup>1\*</sup>, Katsuyuki Uematsu<sup>3</sup>, Masashi Tsuchiya<sup>2</sup>, Tame Akiniro<sup>3</sup>, Hiroshi Miyake<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 北里大学大学, JAMSTEC, <sup>2</sup> 独立行政法人海洋研究開発機構, <sup>3</sup> (株) マリン・ワーク・ジャパン

<sup>1</sup>JAMSTEC/Kitasato Univ., <sup>2</sup>JAMSTEC, <sup>3</sup>Marine Works Japan LTD.

本研究では、底生有孔虫 *Planoglabratella opercularis* (d'Orbigny) に共生する藻類の存在形態を明らかにし、与える藻類の違いが葉緑体の取り込み・維持期間・消化にどのように影響するのかを明らかにすることを目的とし、有孔虫類にも見られる特殊な共生機構（盗葉緑体現象）が宿主有孔虫の代謝に欠かせないものであるか検証することを目標とする。

有孔虫類は、様々な種類の藻類が共生していることが知られている。有孔虫に見られる共生藻類は、緑藻、紅藻、褐藻、渦鞭毛藻、珪藻などが知られており、進化の系統によって共生させる藻類に違いが見られる。また、共生藻類は石灰質殻を持つ有孔虫にのみ見られるものであり、有孔虫の種分化や石灰質有孔虫類の多様性が増大するきっかけになっていると考えられる。浮遊性有孔虫の場合、共生藻類は殻の形成に深く関与しているという報告があるが、その機構については、不明なままである。有孔虫は、共生藻類を獲得する事で貧栄養海域に適応するとともに、細胞を大型化させる（大型有孔虫類の進化）ことが可能となり、生殖の際に生じる配偶子数やクローン個体の数を増加させることができ、より大きな集団を形成することができるなど、共生によって種の多様化、多様な環境への適応が促されていると考えられる。

一方、有孔虫には藻類の共生とは異なる共生様式として盗葉緑体が明らかになっている。盗葉緑体は、外来性の藻類の葉緑体を取りこみ、まるで宿主のオルガネラのように細胞内に保持する現象である。これまでの研究では、盗葉緑体が実際に光合成能を示唆しているが、その取り込みや維持期間についての報告はない。このため、どのような要因で葉緑体が駆動するかは、確かな結論は得られていない。

これまでに *P. opercularis* の共生生物に関する報告はないが、予察的な蛍光顕微鏡下の観察では、細胞質内に赤色の自家蛍光が確認された。このことから共生藻もしくは盗葉緑体を持っている可能性が考えられる。また、絶食状態で飼育すると細胞質の色が時間経過とともに退色していくため、ただ保持し一定期間機能を持たせるだけでなく時間経過と共に消化吸収されていることも示唆される。本研究では、細胞質内で葉緑体がどのように変化するのかを、実体顕微鏡、蛍光顕微鏡、位相差倒立顕微鏡で観察するとともに、時間経過とともに段階的に固定し、透過型電子顕微鏡 (TEM) で細胞内の微細構造を観察した。また、どのような共生藻類が細胞内に存在するのかを、DNA 塩基配列を決定し、分子系統解析を行うことで取り込まれる葉緑体の特異性を調べた。

TEM による細胞内の超微細構造観察の結果、底生有孔虫 *P. opercularis* で、はじめて盗葉緑体を確認した。得られた塩基配列は、Genbank データベースにある *Amphora ovalis* と uncultured diatom のそれぞれの珪藻種とは 98 % 前後の相同性を持つ。本有孔虫種が保持している葉緑体は、クサリ珪藻綱の珪藻類であることが明らかになったが、その種の特定には至っていない。

蛍光顕微鏡観察では、時間経過とともに、盗葉緑体が退色する傾向が明らかになった。絶食状態では、2週間以内に盗葉緑体は消化されることから、頻りに珪藻を取り込み、盗葉緑体として保持する必要がある。また、珪藻以外の藻類で盗葉緑体現象が観察できるかどうかを明らかにするため、生きたクロレラと殺したクロレラをそれぞれ与えて細胞の変化を追跡した。その結果、両方の条件で、クロレラを取り込みを確認できた。殺したクロレラの自家蛍光は非常に微弱であるが飼育期間を通して生きたクロレラと死んだクロレラを与えたものの蛍光強度の差は少なかった。絶食個体と餌を与えた個体の比較からエネルギー源となりうるものを取り込むことで、積極的に盗葉緑体を維持していることが推測できる。

BBG021-P06

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## 放散虫に共生する藻類の多様性 Diversity of symbiotic algae in Radiolaria

湯浅 智子<sup>1\*</sup>, 堀口健雄<sup>2</sup>

Tomoko Yuasa<sup>1\*</sup>, Takeo Horiguchi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 東京学芸大・自然科学系, <sup>2</sup> 北海道大学院・理学研究院

<sup>1</sup>Tokyo Gakugei University, <sup>2</sup>Hokkaido University

Acantharea, Polycystinea, および Phaeodarea は浮遊性原生生物で、熱帯から極海までの広い海域に分布している。これら3綱に対して、“放散虫”という総称が多くの研究者によって用いられており、近年、18S rDNA 領域を用いた分子系統解析が報告され（例えば Polet et al., 2004; Yuasa et al., 2005; Kunitomo et al., 2006）、Rhizaria としてまとめられている。

これら3綱のうち Polycystinea は一般に細胞内部に共生藻を宿しており、光合成を行うことのできる共生体の獲得は、放散虫が地質時代における幾度も生物絶滅期を乗り越えられた要因のひとつだと考えられている。これまで、渦鞭毛藻・プラシノ藻・ハプト藻の電子顕微鏡観察、および分子系統解析の報告がされているが（Anderson, 1983; Gast and Caron, 1996 など）、共生している状態の時は同定に必要な細胞外被や鞭毛などの形態的特徴が欠けているため、それらがどのような種であるのか同定はなされていない。本研究では、Polycystinea に共生している藻類の分子系統解析、および超薄切片の電子顕微鏡観察を行い、その系統および分類学的位置を検討した。

キーワード: 放散虫, 共生, 藻類, Polycystinea, 微細構造, 18S rDNA

Keywords: Radiolaria, symbiosis, algae, Polycystinea, ultrastructure, 18S rDNA

BBG021-P07

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## 琵琶湖北湖における *Synechococcus* spp. の遺伝的多様性と群集動態 Genetic diversity and community dynamics of *Synechococcus* spp. in the northern basin of Lake Biwa

大久保 智司<sup>1\*</sup>, 細川 由貴<sup>1</sup>, 石川可奈子<sup>2</sup>, 宮下 英明<sup>1</sup>  
Satoshi Ohkubo<sup>1\*</sup>, Yuki Hosokawa<sup>1</sup>, Kanako Ishikawa<sup>2</sup>, Hideaki Miyashita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 京大院 人間・環境, <sup>2</sup> 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

<sup>1</sup> Grad Sch of Human Env Stud, Kyoto Univ, <sup>2</sup> LBERI

*Synechococcus* 属は細胞サイズが 0.8-2.0  $\mu\text{m}$  の単細胞シアノバクテリアである。このような細胞サイズのプランクトンをピコプランクトン (0.2-2.0  $\mu\text{m}$ ) と呼ぶが、*Synechococcus* のようなピコ植物プランクトンは、様々な水圏生態系において重要な一次生産者の一つである。湖沼に優占するピコ植物プランクトンの多くは、海産の *Synechococcus* や *Prochlorococcus* を含む「ピコ植物プランクトンクレード」 (*sensu* Urbach et al. 1998) と呼ばれる系統群に属する、淡水性の *Synechococcus* 属シアノバクテリアであることが知られている (Becker et al. 2004)。琵琶湖の北湖では、このようなピコシアノバクテリアの存在量が、最も多い夏季には  $10^5$ - $10^6$  cells/ml レベルに達し、全体のクロロフィル量に占めるピコシアノバクテリアのクロロフィル量の割合が約 45% に達すると報告されている (Nagata 1986)。琵琶湖におけるピコシアノバクテリアの存在量は季節的に変動するが、一年を通して常に  $10^3$  cells/ml 以上存在しており、湖内の物質循環や生態系に大きな影響を与えていると考えられる。琵琶湖ではこれまでに細胞の色調や系統的位置の異なる 3 株の *Synechococcus* spp. (ピンク株、グリーン株、ブラウン株) が分離されており (Maeda et al. 1992)、これらが琵琶湖に出現する主たるピコシアノバクテリアであると考えられていた。しかし、細胞サイズが小さく形態が単純であることから、顕微鏡下での形態や色調観察によってピコシアノバクテリアの違いを識別・同定するのは困難であり、実際に琵琶湖の湖水中に存在する *Synechococcus* spp. の多様性やその動態についてはわかっていない。最近では、DNA をマーカーとした分子生物学的手法によって、環境中に存在する微生物の多様性や群集構造に関する解析が可能となってきた。そこで本研究では、分子生物学的手法を用いて琵琶湖北湖の湖水中に存在する *Synechococcus* spp. の遺伝的多様性と垂直分布、季節変動について解析した。

2009年4月から2010年3月にかけて、琵琶湖北湖の地点 N4 (35°22'44"N, 136°5'43"E) において月に1回採水を行った。採水はニスキン採水器を用いて表層から湖底直上まで深度別に行い、GF/F ガラス繊維ろ紙 (直径 25 mm) を用いて各深度の湖水 1 L を吸引し、ろ紙から DNA を抽出し、それを鋳型として、単細胞シアノバクテリアの 16S rRNA 遺伝子に特異的なプライマーセット GC-CYA353F/CYA781R(b) を用いて PCR を行った。増幅された PCR 産物を変性剤濃度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) によって分離し、互いに移動度の異なるバンドを切り出してその塩基配列を決定した。さらに、得られた塩基配列情報を用いて系統解析を行った。

PCR-DGGE によって検出された塩基配列のうち、*Synechococcus* に由来するものは全て「ピコ植物プランクトンクレード」に属した。各系統型の系統関係について解析したところ、クレード内でさらに 14 の異なるサブグループに分かれた。これまでに分離されている株のうち、ピンク株と同じ、あるいは近縁な系統型は 4-8 月、および 1-3 月のサンプルから検出され、DGGE バンドの濃さからこの時季のピコシアノバクテリア群集中で最も量の多い系統型の 1 つであると考えられた。一方、グリーン株、ブラウン株と近縁な系統型は 8 月の 0-10 m のサンプルからのみ検出され、夏季のピコシアノバクテリアの増加はこれらの系統型の増加が影響していると考えられた。また、9-12 月にかけて相対的に多く検出された系統型は、これまで琵琶湖で報告されたことのないものであった。深度別に比較すると、6-9 月のサンプルでは検出される系統型の組成が深度によって異なっていた。表面から温度躍層まで (0-20 m) は 1 つもしくは 2 つの系統型が相対的に多かったが、それよりも深い所では存在する系統型やその組み合わせが深度によって異なっていた。それに対して、4-5 月および 10-3 月のサンプルでは、表層から湖底直上まで検出される系統型の組成はほとんど変わらなかった。以上の結果から、琵琶湖には、これまでに分離されている株とは異なる複数の系統型の *Synechococcus* spp. が存在することが明らかとなった。また、群集内で優占する系統型や各系統型の垂直方向の分布パターンが月によって異なっており、琵琶湖の *Synechococcus* spp. は季節によってその存在量が変動するだけでなく、出現する系統群やそれらの組成も変動していることが明らかとなった。

キーワード: シアノバクテリア, ピコプランクトン, シネココッカス, 琵琶湖, 群集動態

Keywords: cyanobacteria, picoplankton, *Synechococcus*, Lake Biwa, community dynamics

BBG021-P08

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## 分子生物学的手法を用いた琵琶湖北湖の植物プランクトンの多様性解析 Analysis of Genetic Diversity of Phytoplankton in Lake Biwa using Molecular Biological Technique

細川 由貴<sup>1\*</sup>, 大久保 智司<sup>1</sup>, 石川 可奈子<sup>2</sup>, 宮下 英明<sup>1</sup>  
Yuki Hosokawa<sup>1\*</sup>, Satoshi Ohkubo<sup>1</sup>, Kanako Ishikawa<sup>2</sup>, Hideaki Miyashita<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 京都大学大学院人間・環境学研究科, <sup>2</sup> 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター

<sup>1</sup> Grad Sch Human Environ Stud, Kyoto Univ, <sup>2</sup> Lake Biwa Environmental Research Institute

琵琶湖は日本最大の面積を誇る湖であり、古い歴史をもつことが知られている。また、さまざまな生物を育み、微生物や魚類において多くの固有種や希少種が生育していることでも知られており、生物学的にも高い関心を持たれている。このため、琵琶湖における植物プランクトンの調査は長期に渡って続けられており、これまでに500種以上の植物プランクトンが分類・同定されているほか、全菌数や種構成の季節変動などのデータの蓄積も多い。

近年では分子生物学的手法によって環境中に存在する微生物の多様性や群集構造を解析することが可能となっている。そこで本研究では、分子生物学的手法のひとつであるPCR-変性剤濃度勾配ゲル電気泳動(PCR-DGGE)法を用いて、琵琶湖北湖(N4地点)における植物プランクトン群集構造の垂直分布と周年変動を解析した。

2009年4月から翌年3月に琵琶湖北湖N4地点(35°22'44"N, 136°5'43"E, 水深約90m)において表層から湖底直上まで10mおきに採取した湖水を、GF/Fガラス繊維濾紙で吸引ろ過し、全DNAを抽出した。これを鋳型として、GC-341F/CYA781Rプライマーセットを用いてPCR-DGGEを行った。得られたバンドの塩基配列を決定し、相同性の高い配列をBLAST検索するとともに系統樹を作成して生物種を推定した。

この結果、12月から4月には珪藻類とクリプト藻類が、5月から10月にはシアノバクテリアが優勢して検出されるという、大まかな季節変動があることが分かった。特にシアノバクテリアに関しては、顕微鏡下では認識されていなかった多様な遺伝子型が検出された。さらに、*Radiocystis* sp. や *Acaryochloris* sp. など琵琶湖未記載の種が存在することや、既報のものとは異なる多様な *Synechococcus* sp. が存在することが明らかになった。

琵琶湖において本方法を用いた研究をさらに続けることにより、未記載の種の存在を示すこと、より詳細な多様性を明らかにすることができると思われる。

キーワード: 植物プランクトン, 多様性, 周年変動, PCR-DGGE

Keywords: phytoplankton, diversity, seasonal variation, PCR-DGGE



BBG021-P09

会場:コンベンションホール

時間:5月26日10:30-13:00

## 海洋性酸素非発生型好気性光合成細菌・*Roseobacter*属と*Erythrobacter*属の光合成特性 Photosynthetic characteristics of marine aerobic anoxygenic phototrophic bacteria *Roseobacter* and *Erythrobacter* strains

佐藤 由季<sup>1\*</sup>, 浜崎恒二<sup>2</sup>, 鈴木光次<sup>3</sup>  
Yuki Sato<sup>1\*</sup>, Koji Hamasaki<sup>2</sup>, Koji Suzuki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院・環境科学院, <sup>2</sup>東京大学・大気海洋研究所, <sup>3</sup>北海道大学大学院・地球環境科学研究所

<sup>1</sup>GSES, Hokkaido University, <sup>2</sup>AORI, the University of Tokyo, <sup>3</sup>FEES, Hokkaido University

<導入> 光合成色素バクテリオクロロフィル (BChl) *a*を有する酸素非発生型好気性光合成細菌 (Aerobic Anoxygenic Phototrophic bacteria: AAnPB) は、光栄養と従属栄養の両方の栄養様式を用いて増殖することが出来る。そのため、AAnPBの代謝様式は「光従属栄養」と呼ばれている (Yurkov and Csotonyi 2009)。近年、AAnPB と、プロテオロドプシンを有する細菌やシアノバクテリアである *Prochlorococcus* を含むその他の光従属栄養生物とを合わせて、生命活動におけるエネルギー獲得の観点から、新しい機能グループとして分類してきた (Beja and Suzuki 2008; Cottrell and Kirchman 2009)。

生態学的な観点では、Kolber et al. (2001) は、AAnPB は外洋表層において全菌数に対し少なくとも11%を占めると報告した。その後、AAnPB は海洋表層に広く分布しており、その現存量の時空間変動は大きいことが明らかとなってきた (例えば、Schwalbach and Fuhrman 2005; Lami et al. 2007)。しかしながら、AAnPB 群集の動態を何が支配しているのかということは未だに明らかにされていない。この一つの理由として、AAnPB の生理生態学的特性が未だによく理解されていないことがある。例えば、AAnPB の増殖に対する光合成の寄与はほとんど定量化されていない (Yurkov and Csotonyi 2003)。一方、海洋性 AAnPB の単離株のほとんどは *Roseobacter* 属と *Erythrobacter* 属から得られている。Koblizek et al. (2003) は、*Erythrobacter* 属に属する単離株を数種用いて、16S rRNA 遺伝子と *pufM* 遺伝子の塩基配列、増殖速度、生体内の吸収スペクトル、励起蛍光スペクトル、色素組成の観点から、その生化学的および生理学的特性を決定した。さらに、Koblizek et al. (2010) は、*Roseobacter* クレードに属する AAnPB (COL2P 株) の光合成特性を明らかにした。しかしながら、他の AAnPB については未だ報告がなく、更に、*Roseobacter* 属と *Erythrobacter* 属の光合成特性の違いも不明なままである。

<目的> 本研究の目的は、異なる2属の AAnPB、*Roseobacter* 属および *Erythrobacter* 属の単離株の光合成特性における相同性と相違性を明らかにすることである。

<方法> 沿岸域から *Roseobacter* 属に属する海洋性 AAnPB (OBYS 0001 株) を分離し、生理学的および生化学的特性を、特に光合成特性に注目して調べた。その際、比較対象として *Erythrobacter longus* NBRC 14126 タイプストレイン株を用いた。ZoBell 2216E 液体培地中で20度で培養し、増殖期ごとに以下の4項目の測定を行った。1. 増殖速度 (蛍光顕微鏡直接計数法)、2. 光合成活性 (バクテリオクロロフィル可変蛍光光度法)、3. 光合成色素分析 (高速液体クロマトグラフィー)、4. 光学特性分析 (分光蛍光光度法)。

<結果および考察> 増殖曲線は、OBYS 0001 株および NBRC 14126 とともに同じパターンを示した。細胞内 BChl *a* 濃度は、両株ともに定常期において最大となった。生体内の励起蛍光スペクトル/光学密度は、OBYS 0001 株が 470-600 nm の領域で NBRC 14126 株よりも高い値を示した。可変蛍光測定では緑色光励起下で、OBYS 0001 株の光化学系 II の有効光吸収断面積 (sigma PSII) が、NBRC 14126 株より大きかった。これらの結果は、*Roseobacter* が *Erythrobacter* より、緑色光を効率的に捕集していることを示唆している。一方、光化学系 II の光化学反応の量子収率 ( $F_v/F_m$ ) は、OBYS 0001 株では常に NBRC 14126 株よりも低い値であった。また、OBYS 0001 では、 $F_v/F_m$  と増殖速度との間には有意な正の相関 ( $p < 0.05$ ) があつたが、NBRC 14126 株ではなかつた。これらの結果が示唆することは、AAnPB には、 $F_v/F_m$  を単純に増殖速度のプロキシとして用いることは出来ないということであり、この不確実性は AAnPB の従属栄養性に起因しているのかもしれない。

キーワード: 酸素非発生型好気性光合成細菌, *Roseobacter*, *Erythrobacter*, 可変蛍光, 吸収スペクトル, 励起蛍光スペクトル  
Keywords: aerobic anoxygenic phototrophic bacteria, *Roseobacter*, *Erythrobacter*, variable fluorescence, absorption spectrum, fluorescence excitation spectrum

# Japan Geoscience Union Meeting 2011

(May 22-27 2011 at Makuhari, Chiba, Japan)

©2011. Japan Geoscience Union. All Rights Reserved.



BBG021-P10

会場:コンベンションホール

時間:5月26日 10:30-13:00

## pH環境を制御した有孔虫飼育実験 Environmental pH effect on living foraminifera

豊福 高志<sup>1\*</sup>

Takashi Toyofuku<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 海洋研究開発機構

<sup>1</sup>JAMSTEC

近年、大気中の人為起源二酸化炭素が増加し続けている。従来からこの二酸化炭素を始めとする温暖化ガスの影響による地球温暖化が重要な環境問題として認識されていた。最近になって、二酸化炭素が海洋に溶解することに起因する、海洋の酸性化が新たな問題としてクローズアップされ始めている。海洋が酸性化した場合、炭酸カルシウムの殻を持つ生物にどのような影響を与えるかについては現在様々な実験で調べられているところである。本研究では実験室内に異なるpH環境を再現し、海洋の主要な炭酸塩生産者のひとつである有孔虫を飼育し、殻形成や生態に与える影響を検討する。

キーワード: 有孔虫, pH, 飼育実験

Keywords: foraminifera, pH, culture experiment